

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-330057

(43) 公開日 平成4年(1992)11月18日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 D 213/71		6701-4C		
A 6 1 K 31/44	ABN	7252-4C		
31/47	ABS	7252-4C		
31/495	ABU	7252-4C		
C 0 7 D 215/36		7019-4C		

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平3-128383

(22) 出願日 平成3年(1991)5月1日

(71) 出願人 000226541

日高 弘義

愛知県名古屋市天白区八幡山1101番地の1

タウン上八平5棟104号

(72) 発明者 日高 弘義

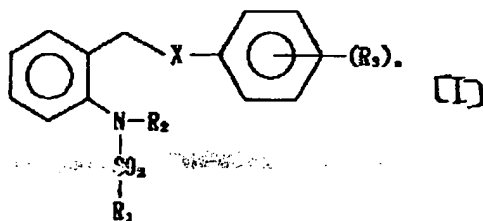
名古屋市天白区八幡山1101-1

(74) 代理人 弁理士 中島 三千雄 (外2名)

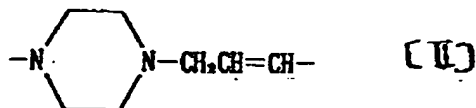
(54) 【発明の名称】 アニリンアリールスルホン酸アミド類及び薬剤として許容され得るその酸付加塩

(57) 【要約】 (修正有)

【構成】 下記【I】で表わされる化合物及び薬剤として許容され得るその酸付加塩。



【但し、式中、 R_1 は、3-ピリジル基、8-キノリニル基または7-(2-アセチル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリニル基； R_2 は、水素、2-ヒドロキシエチル基または2-アミノエチル基； X は、下記【II】

にて示される基、 $-S-CH_2CH=CH-$ または $-N$

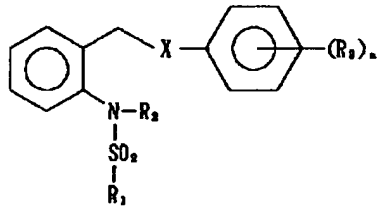
$(-R_4)-CH_2CH_2-O-$ (但し、 R_4 は水素、低級アルキル基またはアリル基を表わす)； R_3 は、低級アルコキシ基； n は、0~3の整数を表わす]

【効果】 この化合物及びその酸付加塩は、血管平滑筋弛緩作用及び生体の酵素系に対する作用を有するため、脳循環改善剤、血管拡張剤、降圧薬、その他狭心症治療薬、血栓症の予防・治療剤として有効である。

【特許請求の範囲】

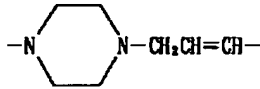
【請求項1】 下記化1:

【化1】



【但し、式中、 R_1 は、3-ピリジル基、8-キノリニル基または7-(2-アセチル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリニル基; R_2 は、水素、2-ヒドロキシエチル基または2-アミノエチル基; X は、下記化2:

【化2】



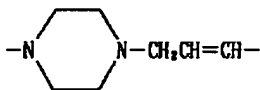
にて示される基、 $-S-CH_2CH=CH-$ または $-N(R_4)-CH_2CH_2-O-$ (但し、 R_4 は水素、低級アルキル基またはアリル基を表わす); R_3 は、低級アルコキシ基; n は、0~3の整数を表わす] で表わされる化合物及び薬剤として許容され得るその酸付加塩。

【請求項2】 下記化3:

【化3】

【但し、式中、 X は、下記化4:

【化4】



にて示される基、 $-S-CH_2CH=CH-$ または $-N(R_4)-CH_2CH_2-O-$ (R_4 は、水素、低級アルキル基、またはアリル基を表わす); R_3 は、低級アルコキシ基; n は、0~3の整数を表わす] で表わされる化合物をハロゲン化ニトロベンジルと反応させ、これを還元した後、次の化5:

 $R_1 -SO_2Cl$

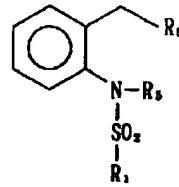
【但し、式中、 R_1 は、3-ピリジル基、8-キノリニル基または7-(2-アセチル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリニル基を表わす] で表わされる化合物と反応させ、要すれば更にアルキル化の後、還元または脱保護を行なって、その後に塩と成すことを特徴とする下記化6:

【化6】 【但し、式中、 R_2 は、水素、2-ヒドロキシエチル基または2-アミノエチル基であり、 R_1 、 R_3 、 R_4 、 X 及び n は、それぞれ前記と同様な意味を

有する] で表わされるアニリンアールスルホン酸アミド類またはそれらの無毒性塩の製造方法。

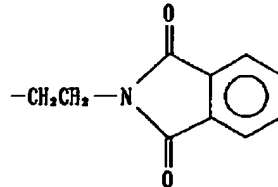
【請求項3】 下記化7:

【化7】



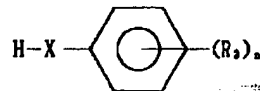
【但し、式中、 R_1 は、3-ピリジル基、8-キノリニル基または7-(2-アセチル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリニル基; R_5 は、水素、 $-CH_2COOEt$ または下記化8:

【化8】

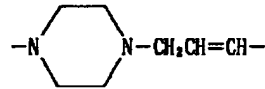


にて示される基; R_5 は、水素またはヒドロキシル基を表わす] で表わされる化合物の R_5 をハロゲンまたはトルエンスルホニルオキシ基とした後、下記化9:

【化9】

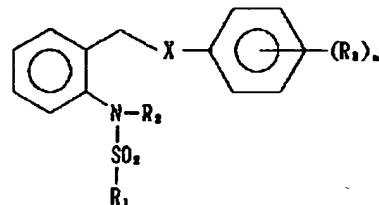
【式中、 X は、下記化10:

30 【化10】



にて示される基、 $-S-CH_2CH=CH-$ または $-N(R_4)-CH_2CH_2-O-$ (R_4 は、水素、低級アルキル基、またはアリル基を表わす); R_3 は、低級アルコキシ基; n は、0~3の整数を表わす] で表わされる化合物と反応せしめ、更に要すれば脱保護または還元を行ない、その後に塩と成すことを特徴とする下記化11:

【化11】



【但し、式中、 R_2 は、水素、2-ヒドロキシエチル基または2-アミノエチル基であり、 R_1 、 R_3 、 R_4 、 X 及び n は、それぞれ前記と同様な意味を有する] で表

わされるアニリンアリールスルホン酸アミド類の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明によって提供される新規なアニリンアリールスルホン酸アミド類、換言すればアリールスルホン酸アニリド誘導体、またはそれらの薬学的に許容し得る酸付加塩は、血管平滑筋弛緩作用が強力であり、更に生体の酵素系に対する作用も見られることにより、脳循環改善剤、血管拡張剤、降圧薬、その他狭心症治療薬、血栓症の予防・治療剤として有用である。本発明は、それら新規なアリールスルホン酸アニリド誘導体またはそれらの許容し得る酸付加塩、及びそれらの製造方法に関するものである。

【0002】

【従来技術】従来より、血管平滑筋弛緩作用を有するアリールスルホン酸アミド誘導体に関しては、ナフタレンスルホン酸アミド誘導体が、特開昭62-87581号公報において明らかにされ、またイソキノリンスルホン酸アミド誘導体が、特開昭58-121279号公報、特開昭60-81168号公報、特公昭63-48869号公報、特公平2-27992号公報等によって、有用な化合物として提案され、公知となっている。

【0003】

【解決課題】しかしながら、上記の如き公報に提案されている化合物群は、その製造方法、薬理作用、また医薬品として、その作用の臓器選択性及び安全性の点で、改善の余地があることが認められている。

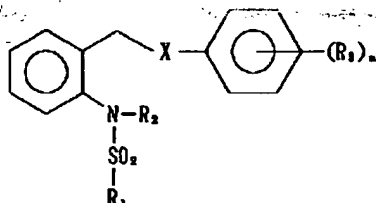
【0004】そこで、本発明は、アリールスルホン酸アニリド（アニリンアリールスルホン酸アミド）を母核として、更に種々の側鎖を導入することにより、医薬品としての薬効を高め、臓器選択性及び安全性において改善された新規化合物を提供することを、その目的とする。

【0005】

【解決手段】そして、本発明は、かかる課題解決のために、下記化12：

【0006】

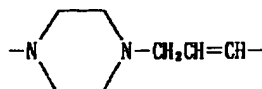
【化12】



【0007】【但し、式中、R₁ は、3-ピリジル基、8-キノリニル基または7-(2-アセチル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリニル基；R₂ は、水素、2-ヒドロキシエチル基または2-アミノエチル基；Xは、下記化13：

【0008】

【化13】

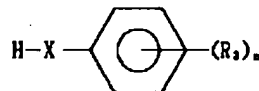


【0009】にて示される基、-S-CH₂CH=CH-または-N(R₄)-CH₂CH₂-O-（但し、R₄ は水素、低級アルキル基、またはアリル基を表わす）；R₅ は、低級アルコキシ基；nは、0~3の整数を表わす】で示される化合物（アニリンアリールスルホン酸アミド類乃至はアリールスルホン酸アニリド類）またはそれらの薬学的に許容され得る酸付加塩を、その要旨とするものである。

【0010】また、本発明にあっては、下記化14：

【0011】

【化14】



【0012】【但し、式中、R₁、X及びnは、それぞれ前記と同様な意味を有する】で表わされる化合物をハロゲン化ニトロベンジルと反応させ、これを還元した後、次の化15：

【0013】R₁-SO₂C1

【0014】【但し、式中、R₁ は、前記と同様な意味を有する】で表わされる化合物と反応させ、要すれば更にアルキル化の後、還元または脱保護を行なって、その後塩と成すことを特徴とする、前記化12で表わされるアニリンアリールスルホン酸アミド類またはそれらの無毒性塩の製造方法をも、その要旨とするものである。

【0015】さらに、本発明は、下記化16：

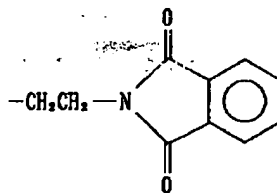
【0016】

【化16】

【0017】【但し、式中、R₁ は、前記と同様な意味を有する；R₅ は、水素、-CH₂COOEtまたは下記化17：

【0018】

【化17】



【0019】にて示される基；R₆ は、水素またはヒドロキシル基を表わす】で表わされる化合物のR₆をハロゲンまたはトルエンスルホン基とした後、前記化14で表わされる化合物と反応させた後、要すれば脱保護または還元を行ない、その後塩と成すことを特徴とする前記化12で表わされるアニリンアリールスルホン酸アミド類の製造方法をも、その要旨とするものである

る。

【0020】なお、この明細書において、低級アルキル基等の「低級」とは、炭素が1~4のものを意図し、また「脱保護」とは、反応性の特性基を一次的に保護する目的で導入された原子団たる保護基を取り除き、元の特性基に戻すことを意味するものである。

【0021】

【具体的構成】ところで、本発明に従う前記化12にて示される化合物に関して、具体的には、例えば、次の化合物を挙げることが出来る。

【0022】(1) 8-[2-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)チオメチルフェニル]アミノスルホニルキノリン

(2) 8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)チオメチルフェニル]アミノ}スルホニルキノリン

(3) 8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-(N-メチル-2-フェノキシエチルアミノ)メチルフェニルアミノ]スルホニルキノリン

(4) 8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-[N-メチル-2-(2,6-ジメトキシフェノキシ)エチルアミノ]メチルフェニルアミノ}スルホニルキノリン

(5) 1-[2-(8-キノリニル)スルホニルアミノフェニル]メチル-4-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)ピペラジン

(6) 8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-[N-メチル-2-(3,5-ジメトキシフェノキシ)エチルアミノ]メチルフェニルアミノ}スルホニルキノリン

(7) 8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-[N-メチル-2-(3,4,5-トリメトキシフェノキシ)エチルアミノ]メチルフェニルアミノ}スルホニルキノリン

(8) 8-[N-(2-アミノエチル)-2-(N-メチル-2-フェノキシエチルアミノ)メチルフェニルアミノ]スルホニルキノリン

(9) 3-[2-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)チオメチルフェニル]アミノスルホニルピリ

ジン

(10) 8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-[N-メチル-2-(2,3,4-トリメトキシフェノキシ)エチルアミノ]メチルフェニルアミノ}スルホニルキノリン

(11) 8-[N-(2-アミノエチル)-2-[N-メチル-2-(3,4,5-トリメトキシフェノキシ)エチルアミノ]メチルフェニルアミノ}スルホニルキノリン

10 (12) 1-[2-[7-(2-アセチル)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリニル]スルホニルアミノフェニル]-4-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)ピペラジン

(13) 1-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)-4-[2-(3-ピリジル)スルホニルアミノフェニル]メチルピペラジン

(14) 2-アセチル-7-[2-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)チオメチルフェニル]アミノスルホニル-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノ

20 リン

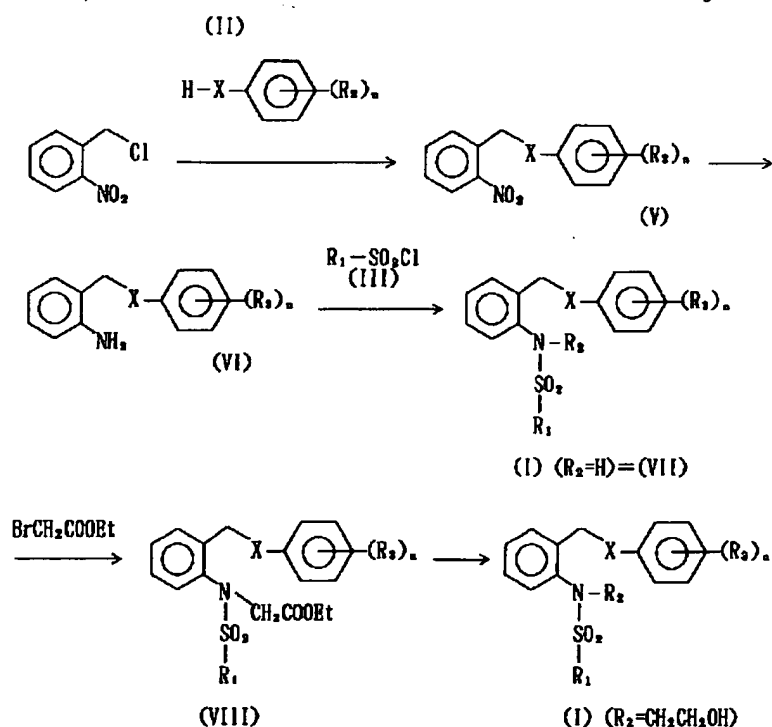
【0023】また、上記の如き化合物の薬学的に許容し得る酸付加塩を与える酸としては、例えば塩酸、臭化水素酸、磷酸、硫酸等の無機酸、及び酢酸、クエン酸、コハク酸、酒石酸、乳酸、フマル酸、マレイン酸、メタン

【0024】なお、本発明に係わる化合物は、o-トルイジンのアリアルスルホンアミド化合物に、窒素、酸素または硫黄を含む炭素鎖を介して芳香環を結合するように設計し、合成したものであり、前記の目的を十分に達成しており、全て新規化合物である。

【0025】ここにおいて、本発明で提供される前記化12で示される化合物は、例えば次の化18(但し、式中、X、R₁、R₂、R₃、nは、前記と同じ意味を表わす)に従って、合成することが出来る。

【0026】

【化18】



【0027】すなわち、かかる化18においては、先ず、*o*-ニトロベンジルクロリドと式(II)で示される化合物とを反応させることにより、式(V)で示される化合物を得、更にこれを還元して、式(VI)で示されるアミノ体とした後、式(III)で示されるアリールスルホニルクロリドを反応させることにより、式(I) (R₂=H)で示されるアミノ体を得ることが出来るのである。なお、式(II)で示される化合物としては、例えばシンナミルメルカプタン、シンナミルピペラジン、*N*-メチル-2-フェノキシエチルアミン、*N*-メチル-2-(2,6-ジメトキシフェノキシ)エチルアミン、*N*-メチル-2-(3,5-ジメトキシフェノキシ)エチルアミン、*N*-メチル-2-(3,4,5-トリメトキシフェノキシ)エチルアミン、*N*-メチル-2-(2,3,4-トリメトキシフェノキシ)エチルアミン、*N*-(*N*,*N*-ジメチルアミノエチル)-2-フェノキシエチルアミン等を挙げることが出来る。

【0028】この反応においては、酸受容体が存在していても良い。酸受容体としては、炭酸水素ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸カリウム、水素化ナトリウム、ナトリウムメチラートのようなアルカリ金属化合物、ピリジン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、トリエチレンジアミンのような有機第3級アミンが挙げられる。また、反応溶媒としては、メタノール、エタノールのようなアルコール類、ジクロロメタン、クロロホルムのようなハロゲン化炭化水素、ベンゼン、トルエン、ピリジンのような芳香族類、テトラヒドロフラン(THF)、ジオキサンのようなエーテル類、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルスルホ

キシド(DMSO)等が使用される。

【0029】なお、*o*-ニトロベンジルクロリドに対する化合物(II)の使用量は、酸受容体の存在する場合、1乃至10倍モルの範囲が好ましく、更に好ましくは1乃至3倍モルであり、一方、酸受容体が存在しない場合、2乃至10倍モルの範囲が好ましい。

【0030】また、酸受容体を用いる場合、その使用量は、*o*-ニトロベンジルクロリドに対して1乃至10倍モルの範囲が好ましく、1乃至6倍モルが特に好ましい。反応温度は、通常、-30~150℃で行なわれ、0~120℃の範囲が好ましく、0~80℃が特に好ましい。

【0031】さらに、ニトロ化合物(V)の還元においては、0.0001~1倍モルのパラジウムを含むパラジウム炭素の存在下、1~10倍モルの水素化ホウ素ナトリウムを用いて行ない、この場合、溶媒としては、メタノール、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド等が使用される。なお、反応温度は、通常、-30~100℃で行なわれ、なかでも、-20~50℃の範囲が好ましい。

【0032】また、この反応は、上記の水素化ホウ素ナトリウムに代えて、直接水素を用いて接触還元を行なってもよく、このとき水素圧は、通常、1~10気圧で行なわれ、反応温度は0~50℃が好ましい。

【0033】さらに、別の還元法としては、ニトロ化合物(V)に対し、3~10倍モルの塩化第一スズを用いて、6~500倍モルの濃塩酸中で反応を行なってもよく、この場合、反応温度は0~100℃で行なうのが好ましい。更に、反応溶媒として、メタノール、エタノール

ルのようなアルコール類、テトラヒドロフラン、ジオキサンのようなエーテル類、アセトニトリル、酢酸エチル等を使用することも出来る。

【0034】そして、かかる還元によって得られるアミノ体 (VI) を、式 (III) で示されるアリールスルホニルクロリドで酸アミド化することにより、化合物 (I) ($R_2 = H$) を得ることが出来る。

【0035】この反応に用いられるアリールスルホニルクロリド (III) としては、例えばキノリン-8-スルホニルクロリド、ピリジン-3-スルホニルクロリド、ベンゼンスルホニルクロリド、2-アセチル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-7-スルホニルクロリド等を挙げることが出来る。

【0036】また、この反応においては、酸受容体が存在していても良い。酸受容体としては、炭酸水素ナトリウム、水酸化ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、水酸化カリウム、ナトリウムメチラートのようなアルカリ金属化合物、ピリジン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、トリエチレンジアミンのような有機第3級アミンが挙げられる。反応溶媒としては、メタノール、エタノールのようなアルコール類、ジクロルメタン、クロロホルムのようなハロゲン化炭化水素、ベンゼン、トルエン、ピリジンのような芳香族類、テトラヒドロフラン、ジオキサンのようなエーテル類、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド等が使用される。

【0037】アミノ体 (VI) に対する酸クロライド (II) の使用量は、1乃至10倍モルの範囲が好ましく、更に好ましくは1乃至3倍モルである。

* 【0038】酸受容体を用いる場合、その使用量は、式 (VI) で示されるアニリン誘導体に対して、1乃至10当量の範囲が好ましく、1乃至6当量が特に好ましい。反応温度は、通常、 $-30 \sim 150^\circ\text{C}$ で行なわれ、 $0 \sim 120^\circ\text{C}$ の範囲が好ましく、 $0 \sim 80^\circ\text{C}$ が特に好ましい。

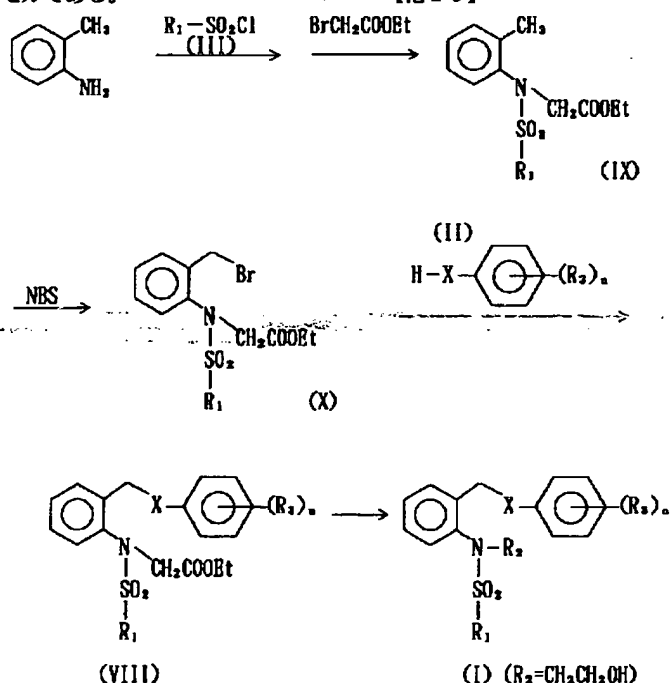
【0039】また、式 (I) で示される化合物のうち、 R_2 が CH_3 、 CH_2 、 OH の化合物は、更に (I) ($R_2 = H$) の化合物をブロム酢酸エチルまたはクロロ酢酸エチルでアルキル化した後、水素化ホウ素ナトリウム、水素化アルミニウムリチウム、または水素化アルミニウム等で還元して得られる。アルキル化反応における溶媒としては、THF、ジオキサン、メタノール、エタノール、アセトニトリル、DMF、DMSO等が使用され、酸受容体を存在させる場合には、例えば炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、水素化ナトリウム、トリエチルアミン等が用いられ、その量は、アミド体 (I) ($R_2 = H$) に対して3倍モル以下が好ましい。

【0040】かかるアルキル化により得られたエステル体 (VIII) の還元は、上記のような金属水素化物をエステル体の0.5~10倍モル用いて行なうことが出来る。溶媒としてはエーテル、THF、ジオキサン、メタノール、エタノール等を用いることが出来る。更に、反応温度は、 $-30 \sim 80^\circ\text{C}$ で行なうのが好ましい。

【0041】また、式 (I) (但し、 $R_2 = H$ は除く) で示される化合物は、次の反応化19に従っても、合成することが出来る。

【0042】

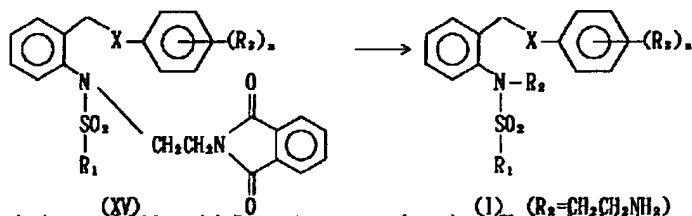
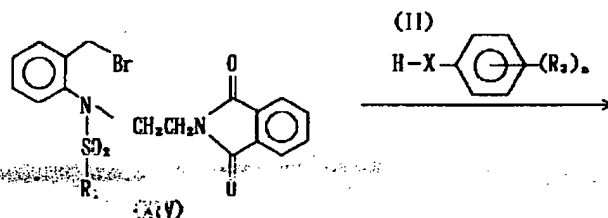
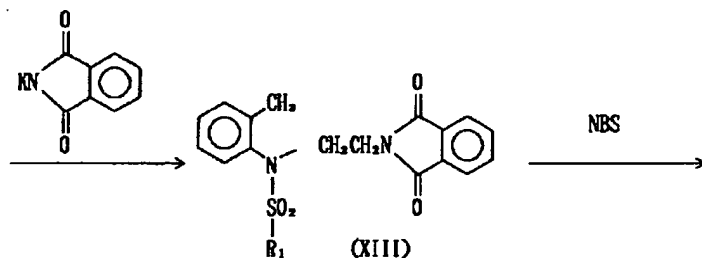
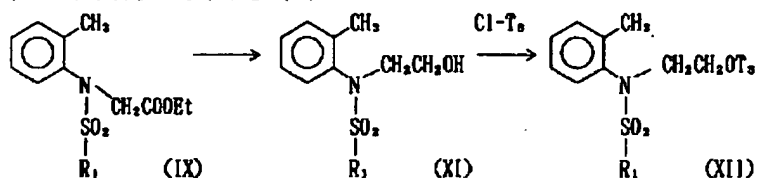
【化19】



【0043】すなわち、反応化18における式 (VI) で 50 表わされる化合物の式 (VII) で表わされる化合物

11

〔(I)において $R_2 = H$ 〕への反応と同様に、 α -トリイジンをアリールスルホニルアミド化した後、先の式(1) ($R_2 = H$) のアルキル化による式(VIII)への反応と同様にしてアルキル化して、式(IX)で表わされる化合物とした後、これを、1~10倍モルのN-ブロムスクシンイミド(NBS)と、ベンゼンまたは四塩化炭素中で0℃~還流温度で反応させ、ブロム体(X)とした後、先の α -ニトロベンジルクロリドから(V)へ*



【0046】(IX)から(XI)への反応は、反応化19における(VIII)から(I) ($R_2 = CH_2CH_2OH$)への反応と同様に行なうことができる。(XI)は、1~10倍モルの α -トリイジンスルホニルクロリドとクロロホルム、ジクロロメタン、エーテル、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、ピリジン等の溶媒中で1~100倍モルの水素化ナトリウム、ピリジンまたはトリエチルアミン等の酸受容体の存在下、-30~100℃で反応させて、トシレート(XII)とすることが出来る。更にこれを、1~10倍モルのフタルイミドカリウム(保護基付与化合物)と、ベンゼン、DMF、DMSO、ジオキサン等の溶媒中で50~200℃で反応させて、

の反応と同様にして(VIII)とし、更にこれは(I) ($R_2 = CH_2CH_2OH$)とすることが出来る。

【0044】また、化合物(IX)から、次の反応化20に従って、(I) ($R_2 = CH_2CH_2NH_2$)とすることも出来る。

【0045】

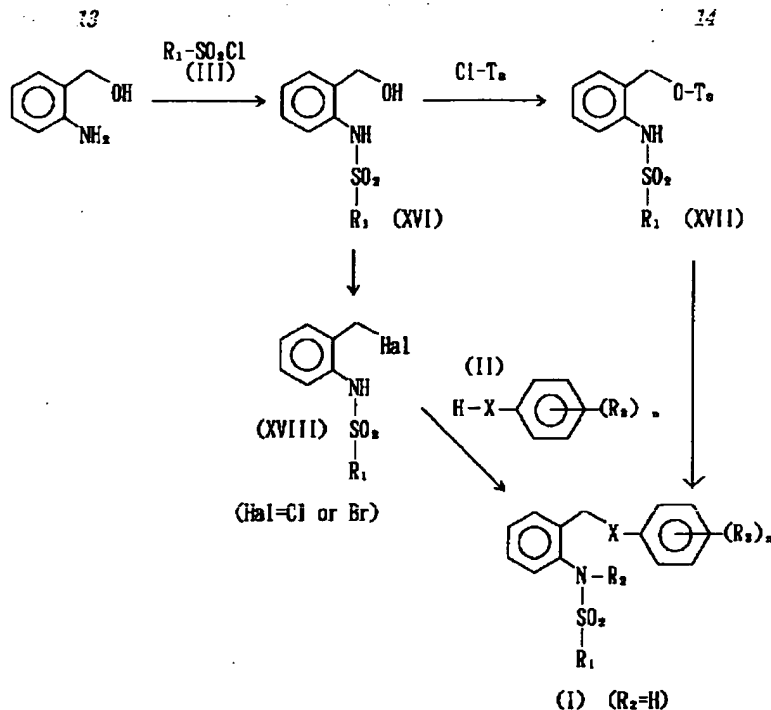
【化20】

(I) ($R_2 = CH_2CH_2NH_2$) (XIII)を得ることが出来る。(XIII)から(XIV)を経て(XV)への反応は、反応化19における(IX)から(X)を経て(VIII)への反応と同様に行なうことが出来る。更に(XV)はメタノール、エタノール、水、DMF、ジオキサン、DMSO等の溶媒中でヒドラジン(またはその水和物)を用いて0~100℃にて脱保護して、(I) ($R_2 = CH_2CH_2NH_2$)とすることが出来る。

【0047】さらに、化合物(I) ($R_2 = H$)は、次の化21に従って、合成することも出来る。

【0048】

【化21】



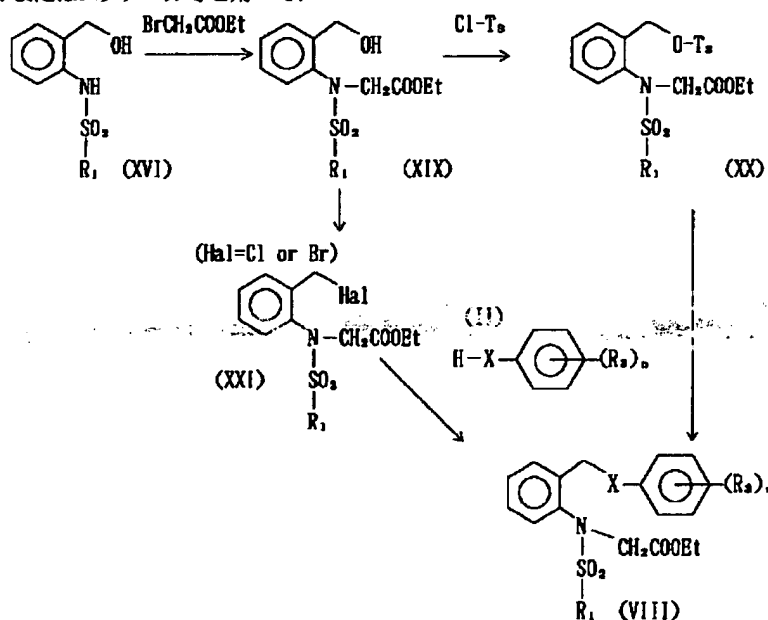
【0049】o-アミノベンジルアルコールに対してア
リールスルホニルクロライドを0.9~1.2倍モル用
いること以外は、反応化18における(VI)から(VII)
への反応と同様にして(XVI)を得、これを反応化20に
おける(XI)から(XII)への反応と同様にしてトシレート
(XVII)とした後、反応化19における(X)から(VII
I)への反応と同様にして(I) (R₂=H)を得るこ
とが出来る。また、(XVI)は、溶媒としてTHF、ジ
オキサン、メタノールまたはエタノール等を用いて、5~*

*200倍モルの塩化水素酸または臭化水素酸を用いて反
応温度0~50℃にて(XVIII)とした後、(XVII)から
(I) (R₂=H)への反応と同様にして、(I) (R₂
=H)を得ることが出来る。

【0050】さらに、(I) (R₂=CH₂CH₂OH)は、次化22に従って合成することも出来る。

【0051】

【化22】



【0052】反応化18における(XVI)を、(I) (R₂
=H) から(VIII)への反応と同様にして、反応化2
1における(XIX)とした後、(XVI)から(XVII)への反応

と同様に(XX)とし、更に(XVII)から(I) (R₂=H)
への反応と同様にして(VIII)を得た後、還元を行な
て、(I) (R₂=CH₂CH₂OH)を得ることが出

来る。また、(XIX)は、反応化21における(XVI)から(XVIII)への反応と同様にして(XXI)とし、その後(XX)から(VIII)への反応と同様にして、(VIII)を得、これを還元すれば、(I) ($R_2 = CH_2CH_2OH$) が得られる。

【0053】

【実施例】以下に、本発明の幾つかの実施例を示し、本発明を更に具体的に明らかにすることとするが、本発明が、これら実施例の記載によって何等の制約をも受けるものでないことは、言うまでもないところである。

【0054】【製造方法】

実施例 1

8-[2-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)チオメチルフェニル]アミノスルホニルキノリンシンナミルメルカプタン: 0.8gをトルエン10mlに溶解し、20%水酸化ナトリウム水溶液15mlを加えた後、攪拌しながら、o-ニトロベンジルクロリド: 1.0gを加え、60℃に加温して30分間反応させた。そして、放冷後、トルエン層を水で3回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。これを濾過した後、溶媒を減圧留去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、シンナミル-2-ニトロベンジルスルフィド2.4gを淡黄色油状として得た。これをテトラヒドロフラン10mlに溶解し、塩化第一スズ: 5.4gを濃塩酸8mlに溶解した液へ加えた後、そのまま1時間攪拌した。この反応混合物を炭酸水素ナトリウムで中和し、酢酸エチルを加えて抽出した後、硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、更に溶媒を減圧留去して、2-アミノベンジルシンナミルスルフィド1.9gを得た。これを、ピリジン10mlに溶解し、8-キノリンスルホニルクロリド: 1.8gを加えて、60℃にて30分間加熱攪拌した。その後、溶媒を減圧留去して、残渣にジクロロメタンを加えて溶解し、そして水で3回洗浄して、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過した後、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物3.2gを淡黄色針状品として得た(融点: 137~138℃)。かかる目的物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

【0055】 1H -NMR ($CDCl_3$, δ , ppm, TMS)

3.17 (2H, d, $J=6Hz$, $-S-CH_2CH=CH-\phi$), 3.53 (2H, s, $\phi-CH_2-S$), 6.07 (1H, dt, $J=15.8$ and $6Hz$, $-CH_2CH=CH-\phi$), 6.40 (1H, d, $J=15.8Hz$, $-CH_2CH=CH-\phi$), 7.00-9.23 (15H, m, Ar), 8.76-8.92 (1H, br, $-NH$)

【0056】実施例 2

実施例1における8-キノリンスルホニルクロリドの代わりに、3-ピリジンスルホニルクロリド: 1.5gを

用いて、次の化合物2.6gを得た。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

3-[2-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)チオメチルフェニル]アミノスルホニルピリジン(塩酸塩として融点62~75℃、針状品)

【0057】 1H -NMR ($CDCl_3$, δ , ppm, TMS)

3.17 (2H, d, $J=6Hz$, $-S-CH_2CH=CH-\phi$), 3.43 (2H, s, $\phi-CH_2-S$), 6.07 (1H, dt, $J=15.8$ and $6Hz$, $-CH_2CH=CH-\phi$), 6.40 (1H, d, $J=15.8Hz$, $-CH_2CH=CH-\phi$), 7.00-9.00 (14H, m, Ar and $-NH$)

【0058】実施例 3

実施例1における8-キノリンスルホニルクロリドの代わりに、2-アセチル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-7-スルホニルクロリド: 2.5gを用いて、次の化合物3.2gを無色無晶体として得た。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

2-アセチル-7-[2-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)チオメチルフェニル]アミノスルホニル-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン

【0059】 1H -NMR ($CDCl_3$, δ , ppm, TMS)

2.17 (3H, s, $-C(=O)-CH_3$), 2.68-3.13 (2H, m, $Ac-N-CH_2CH_2-Ar$), 3.27 (2H, d, $J=6.0Hz$, $-CH_2CH=CH-\phi$), 3.53-4.00 (4H, m, $Ac-N-CH_2CH_2-Ar$ and $Ar-CH_2-S$), 4.50-4.90 (2H, m, $Ac-N-CH_2-Ar$), 6.17 (1H, td, $J=6.4$ and $15.6Hz$, $-CH_2CH=CH-\phi$), 6.50 (1H, d, $J=15.6Hz$, $-CH_2CH=CH-\phi$), 6.73-7.00 (1H, m, NH), 7.00-7.93 (12H, m, Ar)

【0060】実施例 4

8-{N-(2-ヒドロキシエチル)-[2-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)チオメチルフェニル]アミノ}スルホニルキノリン

40 実施例1で得た化合物1gをDMF15mlに溶解し、60%水素化ナトリウム: 0.1gを加えて、30分間攪拌した。プロモ酢酸エチル: 0.5gを加えて、更に30分間そのまま攪拌し、その後、酢酸エチルを加えて水で3回洗浄した。酢酸エチル層は、硫酸ナトリウムで乾燥した後、濾過し、溶媒を減圧留去した。残渣にエタノール20mlを加えて溶解し、水素化ホウ素ナトリウム: 10.3gを加えて1時間攪拌した。反応混合物にジクロロメタンを加え、水で3回洗浄した後、硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過した後、減圧濃縮してシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物0.5gを無

色無晶体として得た。この得られた目的物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

【0061】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS)

3. 17-4. 79 (9H, m, $\phi-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}$, $\text{CH}=\text{CH}-\phi$ and $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{O}$ H), 5. 89-9. 23 (17H, m, Ar and $-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\phi$)

【0062】実施例 5

実施例1におけるシンナミルメルカプタンの代わりに、シンナミルピペラジン: 1. 1gを用いて、次の化合物 3. 0gを得た。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

1-[2-(8-キノリニル)スルホニルアミノフェニル]メチル-4-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)ピペラジン (融点168~170℃、針状晶)

【0063】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS)

2. 73-3. 66 (10H, m, $-\text{CH}_2 \times 4$ in piperazine and $\phi-\text{CH}_2-\text{N}$), 3. 83 (2H, d, $J=6\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\phi$), 6. 53 (1H, dt, $J=16$ and 6Hz , $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\phi$), 6. 83 (1H, d, $J=16\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\phi$), 6. 83-9. 20 (15H, m, Ar)

【0064】実施例 6

実施例1における8-キノリンスルホニルクロリドの代わりに、3-ピリジンスルホニルクロリド: 1. 5gを用いて、次の化合物 2. 6gを得た。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

1-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)-4-[2-(3-ピリジル)スルホニルアミノフェニル]メチルピペラジン (融点149~150℃、板状晶)

【0065】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS)

2. 33-3. 00 (18H, m, $-\text{CH}_2 \times 4$ in piperazine), 3. 18 (2H, d, $J=6\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\phi$), 3. 28 (2H, s, $\phi-\text{CH}_2-\text{N}$), 6. 35 (1H, dt, $J=16$ and 6Hz , $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\phi$), 6. 57 (1H, d, $J=16\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\phi$), 6. 93-9. 20 (13H, m, Ar), 9. 34 (1H, broad s, $-\text{NH}$)

【0066】実施例 7

1-[2-[7-(2-アセチル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリニル]スルホニルアミノフェニル]-4-(3-フェニル-trans-2-プロベニル)ピペラジン

o-アミノベンジルアルコール: 1. 3gをピリジン15mlに溶解し、7-(2-アセチル)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリンスルホニルクロリド: 3gを加えて、60℃にて1時間加熱撹拌した。そして、放冷後、ジクロルメタンを加え、10%塩酸、次いで水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した後、濾過し、減圧濃縮した後、テトラヒドロフラン20mlに溶解し、更に47%臭化水素酸20mlを加えて、50℃にて1時間加熱撹拌した。放冷後、ジクロルメタンを加えて、水、炭酸水素ナトリウム水、水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過した後、溶媒を減圧留去した。残渣をエタノール20mlに溶解して、シンナミルピペラジン: 1. 5gを加えて1時間加熱還流した。放冷後、エタノールを減圧留去し、ジクロルメタンに溶解した後、炭酸水素ナトリウム水、水で洗浄し、有機層を硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過した後、溶媒を減圧留去して、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物1. 9gを無色無晶体として得た (二塩酸塩として融点160~170℃、針状晶)。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

【0067】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS)

2. 17 (3H, s, $-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$), 2. 23-3. 10 (10H, m, $-\text{CH}_2 \times 4$ in piperazine and $\text{Ac}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 3. 21 (2H, d, $J=6. 0\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\phi$), 3. 29 (2H, s, $\text{Ar}-\text{CH}_2-\text{piperazine}$), 3. 43-4. 70 (2H, m, $\text{Ac}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 4. 53-4. 81 (2H, m, $\text{Ac}-\text{N}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 6. 23 (1H, dd, $J=6. 0$ and $16. 0\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\phi$), 6. 57 (1H, d, $J=16. 0\text{Hz}$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\phi$), 6. 91-7. 83 (13H, m, Ar and $-\text{NH}$)

【0068】実施例 8

8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-[N-メチル-2-(3, 5-ジメトキシフェノキシ)エチルアミノ]メチルフェニルアミノ]スルホニルキノリン

実施例7と同様の操作により、o-アミノベンジルアルコールと8-キノリンスルホニルクロリドを反応させて得られたスルホンアミド: 3gをDMF 30mlに溶解し、60%水素化ナトリウム: 420mgを加えて30分間撹拌した。その後、プロモ酢酸エチル: 1. 9gを加えて2時間撹拌し、この反応混合物を減圧濃縮した後、酢酸エチルに溶解し、水で洗浄した。そして、硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過した後、溶媒を減圧留去して、エーテルを加えて結晶化し、粗結晶を2. 8g得た。これを、ピリジン20mlに溶解し、p-トルエンスルホニルクロリド: 2. 2gを加えて16時間撹拌した。反応混合物を減圧濃縮し、ジクロルメタンを加えて

19

溶解し、水で洗浄した後、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒を減圧濃縮した後、エーテルを加えて結晶化し、p-トルエンスルホン酸エステル体を3.3g得た。2-(3,5-ジメトキシフェノキシ)エチルメチルアミン:2gをDMF20mlに溶解した後、上記p-トルエンスルホン酸エステル体を加えて90℃にて30分間加熱攪拌した。放冷後、溶媒を減圧留去し、残渣を酢酸エチルに溶解した後、水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥して、濾過し、そして溶媒を減圧留去した後、残渣を
10 実施例4と同様に操作して還元し、エタノール/石油エーテルより結晶化して無色プリズム晶として目的物を1.4g得た(融点118~120℃)。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

【0069】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS)

2.32 (3H, s, $-\text{N}-\text{CH}_3$), 2.76-3.69 (6H, m, $\phi-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$ and $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ or $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}$), 3.78 (6H, s, $-\text{OCH}_3 \times 2$), 4.07-4.46 (2H, t like, $J=6.5\text{Hz}$, $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\phi$), 4.76-5.28 (2H, m, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ or $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$), 6.05-9.27 (13H, m, Ar)

【0070】実施例 9

実施例8における2-(3,5-ジメトキシフェノキシ)エチルメチルアミンの代わりに、2-(2,6-ジメトキシフェノキシ)エチルメチルアミン:2gを用いて、次の化合物1.4gを得た。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-[N-メチル-2-(2,6-ジメトキシフェノキシ)エチルアミノ]メチルフェニルアミノ]スルホニルキノリン(融点141~142℃、プリズム晶)

【0071】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS)

2.38 (3H, s, $-\text{N}-\text{CH}_3$), 2.81-3.76 (6H, m, $\phi-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$ and $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ or $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}$), 3.84 (6H, s, $-\text{OCH}_3 \times 2$), 4.07-4.46 (2H, t like, $J=7\text{Hz}$, $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\phi$), 4.76-5.36 (2H, m, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ or $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}$), 6.23-9.30 (13H, m, Ar)

【0072】実施例 10

8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-[N-メチル-2-(3,4,5-トリメトキシフェノキシ)エチルアミノ]メチルフェニルアミノ]スルホニルキノリン
実施例1及び2と同様の操作により、o-トルイジン:1.3gを8-キノリンスルホニルクロリド:3.2gと反応させた後、プロモ酢酸エチル:2.4gを反応さ
50

20

せ、得られたN-エトキシカルボニルメチル-o-トルイジン-8-キノリンスルホンアミド:3.6gとN-プロモスクシンイミド:2.5gを四塩化炭素50mlに加え、更に過酸化ベンゾイル:0.2gを加えた後に、4時間加熱還流した。放冷後、溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、粗プロモ体:2.6gを得た。これを、トルエン50mlに溶解し、N-メチル-2-(3,4,5-トリメトキシフェノキシ)エチルアミン:2gとトリエチルアミン1gを加えて、80℃にて1時間加熱攪拌した。放冷後、水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、更に実施例2と同様の操作により、還元を行なった後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、これをエタノール/石油エーテルより結晶化して、目的物1.9gをプリズム晶として得た(融点113~115℃)。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

【0073】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS)

2.33 (3H, s, $-\text{N}-\text{CH}_3$), 2.53-5.40 (10H, m, $\phi-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$ and $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$), 3.82 (3H, s, $p-\text{OCH}_3$), 3.90 (6H, s, $m-\text{OCH}_3 \times 2$), 6.29-9.23 (13H, m, Ar and $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$)

【0074】実施例 11

実施例10におけるN-メチル-2-(3,4,5-トリメトキシフェノキシ)エチルアミンの代わりに、N-メチル-2-(2,3,4-トリメトキシフェノキシ)エチルアミン:2gを用いて、次の化合物1.8gを得た。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-[N-メチル-2-(2,3,4-トリメトキシフェノキシ)エチルアミノ]メチルフェニルアミノ]スルホニルキノリン(融点132~134℃、針状晶)。

【0075】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS)

2.33 (3H, s, $-\text{N}-\text{CH}_3$), 2.80-5.30 (19H, m, $\phi-\text{CH}_2-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$ and $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3 \times 3$), 6.26-9.23 (13H, m, Ar and $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$)

【0076】実施例 12

8-[N-(2-アミノエチル)-2-(N-メチル-2-フェノキシエチルアミノ)メチルフェニルアミノ]スルホニルキノリン
実施例10で得られたN-エトキシカルボニルメチル-o-トルイジン-8-キノリンスルホンアミド:4gを

21

実施例2と同様の操作で還元し、得られたN-(2-ヒドロキシエチル)-o-トルイジン-8-キノリンスルホンアミド: 3.3gをピリジン: 20mlに溶解し、p-トルエンスルホニルクロリド: 2.2gを加えて16時間攪拌した。そして、溶媒を減圧留去した後、ジクロロメタンを加えて溶かし、水で洗浄した。次いで、硫酸ナトリウムで乾燥し、溶媒留去後、残渣をDMF 30mlに溶解し、フタルイミドカリウム: 3.5gを加えて、100℃にて1時間加熱攪拌した。放冷後、溶媒を減圧留去し、酢酸エチルに溶解した後、水で洗浄して、硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、これを、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、得られた結晶を実施例10と同様の操作によりブロム化の後、N-メチル-2-フェノキシエチルアミン: 0.5gでアミノ化した。これをエタノール30mlに溶解し、ヒドラジン水和物20mlを加えた後、2時間加熱還流し、放冷後、溶媒を減圧留去して、残渣をジクロロメタンに溶解した。そして、水で洗浄して、硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過した後、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、目的物を無色無晶体として0.65g得た。更に、これをメタノール10mlに溶解し、飽和塩化水素メタノール溶液1mlを加えた後、溶媒を減圧留去し、これをエタノールより結晶化して、目的物の一塩酸塩を無色プリズム晶として得た(融点228~240℃)。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

【0077】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS):

1.92 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 2.13 (3H, s, $-\text{N-CH}_3$), 2.56 (2H, t, $\text{J}=6\text{ Hz}$, $-\text{N-CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\phi$ or $-\text{N-CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}_2$), 2.84 (2H, t, $\text{J}=6.5\text{ Hz}$, $-\text{N-CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\phi$ or $-\text{N-CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}_2$), 3.02-4.62 (6H, m, $\phi-\text{CH}_2-\text{N-CH}_2\text{CH}_2-\text{O}$ and $-\text{N-CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$), 6.47-9.24 (15H, m, Ar)

【0078】実施例 13

実施例12におけるN-メチル-2-フェノキシエチルアミンの代わりに、N-メチル-2-(3,4,5-トリメトキシフェノキシ)エチルアミン: 0.8gを用いて、次の化合物0.81gを得た。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

8-[N-(2-アミノエチル)-2-[N-メチル-2-(3,4,5-トリメトキシフェノキシ)エチルアミノ]メチルフェニルアミノ]スルホニルキノリン(二塩酸塩として融点173~175℃、プリズム晶)

【0079】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS)

1.60 (2H, s, $-\text{NH}_2$), 2.20 (3H, 50

22

s, $-\text{N-CH}_3$), 2.50-3.00 (4H, m, $-\text{N-CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\phi$ and $-\text{N-CH}_2\text{CH}_2-\text{NH}_2$), 3.81 (3H, s, $p-\text{OCH}_3$), 3.86 (6H, s, $m-\text{OCH}_3 \times 2$), 3.50-4.54 (6H, m, $\phi-\text{CH}_2-\text{N-CH}_2\text{CH}_2-\text{O}$ and $-\text{N-CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$), 5.20-9.28 (12H, m, Ar)

【0080】実施例 14

8-[N-(2-ヒドロキシエチル)-2-(N-メチル-2-フェノキシエチルアミノ)メチルフェニルアミノ]スルホニルキノリン

o-ニトロベンジルクロライド: 1.8gとメチル-(2-フェノキシエチル)アミン: 1.5gをトルエンに溶解し、トリエチルアミン: 1gを加えて50℃にて30分間加熱攪拌した。放冷後、トルエンを加えて水で3回洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥した後、濾過し、溶媒を留去した。残渣にメタノール30mlを加えて溶解し、10%パラジウム炭素を加えた後、水素化ホウ素ナトリウム500mgを少しずつ加え、そのまま30分間攪拌した。そして、濾過した後、溶媒を減圧留去して、残渣をジクロロメタンに溶解し、水で3回洗浄して硫酸ナトリウムで乾燥した。次いで、溶媒を減圧留去し、残渣をピリジンに溶解した。その後、実施例1及び2と同様に操作して、無色無晶体として目的物2.4gを得た。この化合物のNMR分析結果は、以下の通りであった。

【0081】 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , δ , ppm, TMS)

2.31 (3H, s, $-\text{N-CH}_3$), 2.66-3.87 (6H, m, $\phi-\text{CH}_2-\text{N-CH}_2\text{CH}_2-\text{O}$ and $-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH}$ or $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 4.23 (2H, t, $\text{J}=7\text{ Hz}$, $-\text{N-CH}_2\text{CH}_2-\text{O}-\phi$), 4.74-5.35 (2H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ or $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 6.66-9.20 (15H, m, Ar)

【0082】上記の実施例において合成された化合物の有効性を判断するための試験方法及びその結果は、下記の如くであった。

【0083】(ミオシン軽鎖キナーゼ (MLCK) 阻害作用) ニワトリ砂嚢平滑筋ミオシン軽鎖を基質として、

$[\gamma\text{-}^{32}\text{P}] \text{ATP}$ から基質蛋白への放射活性を測定する。250mM トリス塩酸 (pH 7.0)、100mM 塩化マグネシウム、2mM 塩化カルシウムをそれぞれ20 μl 、ミオシン軽鎖(ニワトリ砂嚢平滑筋よりミオシンを調整したもの)を40 μg 、ミオシン軽鎖キナーゼ(ニワトリ砂嚢平滑筋より調整したもの)を40 μg 、カルモデュリン(TCA法によってウシ脳から調製し、カルモデュリン阻害剤W-7アフィニティーカラムにより精製したもの)を80ng、被験薬物(10 μM ~1mMの適宜濃度に調製)を20 μl 、以上のものを試験

管中に混合し、蒸留水にて総量を200 μ lとする。

【0084】上記溶液に100 μ M [γ - 32 P] ATP (2.5 μ Ci/ml) 20 μ lを添加して、30℃で15分間処理した後、20%TCA 0.5mlを加えて反応を停止させる。反応停止後、5%TCA 3mlと1mg/mlアルブミン溶液を0.1mlを加えて遠心し、酸不溶性蛋白を試験管底に固定する。更に、上澄を除き、5%TCA 3mlを加えて遠心する。この操作を2回繰り返して、沈澱蛋白質を1N-NaOH 2mlで溶解し、約10mlを含むバイアルに入れ、これに乳化シンチレーション液 (ACS-II, アマシャム社製) 10mlを加えた後、液体シンチレーションカウンター (LS 7500, ベックマン社製) によって溶出液中の [γ - 32 P] ATPによる放射活性を測定した。

【0085】カルシウム存在下の酵素活性を100%、カルシウム非存在下の酵素活性を0%として、50%阻害を与える被験化合物の μ M濃度をIC₅₀値として算出し、下記表1に示した。但し、被験化合物100 μ Mで50%抑制作用を示さないものは、作用なしと判定した。

【0086】[カルモデュリン依存性ホスホジエステラーゼ (Ca-PDE) 阻害作用] 500mMトリス塩酸 (pH8.0)、50mM塩化マグネシウム、2mM塩化カルシウム (または10mMEGTA)、1mg/mlウシ血清アルブミン、カルモデュリン依存性ホスホジエステラーゼ (ラット脳よりDEAE-セルロースカラムにて部分精製したもの) をそれぞれ20 μ lずつ、カルモデュリン (TCA法によってウシ脳から調製し、カルモデュリン阻害剤W-7アフィニティーカラムにより製したもの) を200 μ g、及び被験薬物 (10 μ M 30~1mMの適宜濃度に調製) を20 μ l試験管中で混合し、更に蒸留水にて総量を200 μ lに調製する。 *

* 【0087】上記溶液に、4 μ M [3 H]-サイクリックグアノシンモノホスフェート (2.5 μ Ci/ml) 20 μ lを添加して、30℃で15分間処理した後、沸騰水中で3~5分間加熱した。この反応液を氷水中で冷却した後、5'-ヌクレオチダーゼ (シグマ社製、ヘビ毒) 20 μ gを加え、再び30℃、10分間処理した後、水約2mlを加えてから、陽イオン交換樹脂 (AG 50W-X4, パイオラッド社製) カラムに注ぎ、試験管を洗浄した液も加えた後、約20mlの水でカラムを洗浄した。このカラムに3Nアンモニア水 3mlを注ぎ、溶出される液をバイアル瓶に受け、これに乳化シンチレーション液 (ACS-II, アマシャム社製) 10mlを加えた後、液体シンチレーションカウンター (LS 7500, ベックマン社製) によって溶出液中の [3 H]-グアノシンによる放射活性を測定した。

【0088】カルモデュリン存在下の酵素活性を0%として、50%阻害を与える被験化合物の μ M濃度をIC₅₀値として算出し、下記表1に示した。但し、被験化合物100 μ Mで50%抑制作用を示さないものは、作用なしと判定した (EGTAは、エチレンジアミン四酢酸)。 20

【0089】[血管平滑筋弛緩作用] 日本白色種ウサギを放血致死させて開腹し、摘出した上腸管動脈を常法に従って螺旋状切開し、条片標本とした後、5%の炭酸ガスを含む酸素ガスを通気した37 \pm 0.5℃のクレブス-ヘンサレイト液中に張力を負荷して懸垂した。この条片標本を20mM塩化カリウムで収縮させ、一定の張力を保った後、目的化合物を累積的に投与した。弛緩作用は、塩化カリウムによる収縮張力を100%として、50%弛緩される濃度を、下記表1に表示した。

【0090】

【表1】

実施例	MLCK 阻害作用	Ca-PDE阻害作用		血管平滑筋 弛緩作用
		Activated	Basal	
1	—	—	—	4.1
4	—	50.0	—	4.3
5	19.0	—	—	6.4
8	85.5	2.0	—	7.2
10	—	13.5	9.0	15.2
12	9.4	5.0	—	11.2
14	17.8	2.5	—	1.1

※単位は、全て [μ M]

※ [-] は、100 μ Mで50%未満の抑制作用であったもの

【0091】[血圧・血流量に対する作用] 室温23 \pm 1℃、湿度55 \pm 5%の恒温恒湿飼育室を使用し、雄性 Wistar系ラット (体重200~300g) をベン 50 トバルビタールナトリウム (50mg/mlネンブター注射液; ダイナボット社製) を75mg/ml腹腔内投与し、麻酔した。動物を固定台に固定し、胸部から咽

25

頭部の正中線に沿って切開し、気管を分離露出する。露出気管の甲状腺下部辺りに切り口を作り、ここに気管カニューレを装着する。左右頸動脈を迷走神経を傷つけないように周囲組織から4~5cmそれぞれ剥離する。

【0092】剥離した左頸動脈の上端を結紮し、最下端を動脈クレンメで挟み、結紮点下端側に切り口を入れる。ここに血圧測定用圧トランスジューサー（血圧トランスジューサーライフキット；日本光電社製）と連結し、ヘパリン生理食塩水（200 unit/mlヘパリン）で満たした動脈カニューレを挿入し、外れないように二重結紮する。カニューレ内に気泡があれば、これを除く。血圧測定は、圧トランスジューサーを介し、血圧測定用アンプ（AP-641G；日本光電社製）、サーマルアイレコーダ（RTA-1100；日本光電社製）で記録する。

【0093】剥離した右頸動脈を血流量トランスジューサー（日本光電・FI-005T・0.5mmφ）に引っ*

かけ、血流量測定用アンプ（MF-26；日本光電社製）、直流アンプ（AD-641G；日本光電社製）を介し、サーマルアイレコーダで記録する。

【0094】薬物投与のためのカニューレを左大腿部の皮膚を切開し、そこに露出した静脈に挿入する。被験化合物は、塩酸塩のものを5%グルコースに溶解または2%ポリソルベート80溶液に懸濁し、炭酸水素ナトリウムで中和して、動物100gに対し0.1mlとなるように左大腿静脈から投与する。

【0095】血圧下降作用の評価値は、血圧を30mmHg低下させる用量を用量反応回帰直線より求めてED30値として表示する。また、血流量の評価値は、被験化合物投与前の血流量に対する最大増加時の血流量の百分率を算出し、表2に表示する。

【0096】

【表2】

実施例	ED30mmHg (mg/kg)	総頸動脈血流量	
		投与量 (mg/kg)	増加率 (%)
8	2.21 [1.68-2.85]	0.1	24.5
14	2.45 [1.98-2.94]	0.25	23.6

※[]は、95%信頼限界値

【0097】〔急性毒性〕室温23±1℃、湿度55±5%の恒温恒湿飼育室を使用し、雄性ddY系マウス（体重22~28g）を1群10匹に分けて被験動物とし、本発明による代表的化合物の内の数種を被験化合物として、これを2%ポリソルベート80溶液に懸濁させ、上記被験動物に経口投与して、その後1週間観察し、その死亡率から急性毒性値を求め、表3に示した。

【0098】

【表3】

実施例	LD ₅₀ (経口投与)
1	>1500mg/kg
14	576 [460-718] mg/kg

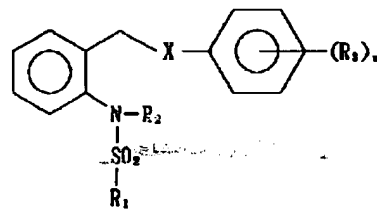
※[]は、95%信頼限界値

【0099】

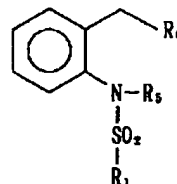
【発明の効果】以上の結果より明らかなように、本発明に係る化合物は、新規物質であって、平滑筋弛緩作用を

有し、in vivoにおいて血圧下降作用を有することから、降圧剤或いは血管拡張剤、脳循環改善剤などの医薬品として有用である。また、各種リン酸化酵素の活性阻害作用を有することから、低毒性の抗腫瘍剤としても有用である。

【化6】



【化6】



フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁵

C 0 7 D 217/22

401/12

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

6701-4C

8829-4C